

EFEK PENAMBAHAN GLUKOSA PADA SABUROUD DEXTROSE BROTH TERHADAP PERTUMBUHAN *CANDIDA ALBICANS* (UJI *IN VITRO*)

Lakshmi A. Leepel*, Rahmat Hidayat**, Ria Puspitawati*, Boy M Bahtiar*

*Departemen Biologi Oral, Fakultas kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

**Mahasiswa Profesi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

Abstract

High carbohydrate intake is one of predisposing factors of oral candidiasis. Whether glucose addition in medium will increase the growth of *Candida albicans in vitro* is subject to further investigation. **Objective:** Investigating the effect of 1%, 5%, 10% glucose addition on the growth of *C. albicans in vitro*. **Method:** *C. albicans* sample was taken from oral swab of a male oral candidiasis patient. Identification of *C. albicans* was conducted using CHROMagar and confirmed by germ tube formation in serum. *C. albicans* colonies were inoculated in SDB. As a comparison, *C. albicans* ATCC 10231 was used. After 2 days the cultures were serially diluted and inoculated in SDB without glucose (control), and with 1%, 5%, 10% additional glucose, kept for 3 and 7 days in room temperature, then inoculated in SDA. The CFU/ml were counted after 2 days. ANOVA with α 0.05 was used. **Result:** After 3 days, additional 1%, 5%, and 10% glucose in media with clinical strain of *C. albicans* resulted in 181.5, 582, and 811 CFU/ml respectively while in media with *C. albicans* ATCC were 21.5, 177.5, 375.5 CFU/ml. The growth of *C. albicans* with no additional glucose were 970 (clinical strain) and 957 CFU/ml (ATCC). After 7 days, the growth of clinical strain of *C. albicans* with additional glucose 1%, 5%, 10% were 2350, 9650, 9560 CFU/ml respectively while the growth of *C. albicans* ATCC were 5000, 5450, 3550 CFU/ml. Statistically, additional 1% glucose for 3 days lead to significant decreased of growth of both clinical strain and ATCC 10231 *C. albicans* ($p < 0,05$). However, only additional 5% and 10% glucose in clinical isolate for 7 days increased the growth of *C. albicans* significantly ($p < 0,05$). **Conclusion:** The effect of additional glucose on the increased growth of *C. albicans in vitro* is influenced by the concentration, exposure duration of glucose, and by the strain of *C. albicans*.

Key word: *Candida albicans*, glucose level

Pendahuluan

Candida adalah jamur komensal yang hidup antara lain di rongga mulut, saluran

pencernaan, dan vagina. Adanya faktor predisposisi dapat menyebabkan perubahan *Candida* yang bersifat komensal menjadi

patogen yang dapat menyebabkan kandidiasis antara lain pada mulut dan genital manusia.¹

Kandidiasis adalah infeksi jamur tersering pada manusia yang umumnya terbatas pada kulit dan membran mukosa.¹ Beberapa tipe kandidiasis mukokutan meliputi: regio orofaring, vulvovaginal, *paronychia*, interdigital, dan intertriginus.²

Kandidiasis oral biasanya merupakan infeksi sekunder yang menyertai kondisi medis lainnya. Campuran spesies *Candida* dapat ditemukan pada kandidiasis oral dengan penyebab utamanya *C. albicans*,³ sekitar 85—95 %.⁴ Infeksi *C. albicans* pada rongga mulut tampak sebagai bercak putih pada gingiva, lidah, dan membran mukosa oral yang jika dikerok meninggalkan permukaan yang merah dan berdarah.⁴

Faktor predisposisi utama kandidiasis adalah rendahnya daya tahan tubuh hospes, seperti pada penderita AIDS atau pasien yang menjalani kemoterapi, dan sebagainya.⁵ Faktor predisposisi lain yang dapat menyebabkan tingginya prevalensi kandidiasis antara lain, pasien yang menjalani pengobatan dengan antibiotik spektrum luas dalam jangka panjang; iritasi kronik akibat pemakaian protesa yang tidak adekuat; dan pola makan yang cenderung tinggi gula.^{5,6}

Pola makan modern yang cenderung kaya karbohidrat dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya kandidiasis oral.⁷ Ini disebabkan karena asupan glukosa merupakan salah satu faktor predisposisi yang berperan dalam perkembangan infeksi *C. albicans*. Kandidiasis lebih sering terjadi ketika ada ketersediaan glukosa yang cukup tinggi, seperti pada penderita diabetes dan pasien yang menerima nutrisi dengan cara infus total.⁸ Abu-Elteen melaporkan bahwa penderita diabetes melitus (DM) mempunyai resiko terkena oral kandidiasis 20% lebih tinggi dibandingkan bukan penderita dan bahwa penyakit diabetes dapat meningkatkan kolonisasi dan proliferasi *C. albicans* dalam rongga mulut.⁸ Penelitiannya lebih lanjut menunjukkan bahwa perlekatan *C. albicans* pada sel epitel bukal rongga mulut pada manusia meningkat secara signifikan setelah mengonsumsi karbohidrat seperti

galaktosa, glukosa, sukrosa, fruktosa, maltosa, dan sorbitol.⁹

Diet kaya karbohidrat dapat meningkatkan pertumbuhan *Candida sp.* dalam rongga mulut,¹⁰ sehingga berkorelasi positif dengan peningkatan faktor virulensi *C. albicans in vivo*. Namun masih belum diketahui apakah pertumbuhan *C. albicans* juga akan meningkat bila terjadi penambahan glukosa dalam medium pertumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan efek penambahan glukosa (1%, 5%, dan 10%) selama 3 dan 7 hari terhadap pertumbuhan *C. albicans in vitro*.

Metode

Setiap alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dipersiapkan dalam keadaan steril. *C. albicans* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari usapan (*swab*) dari lesi mukosa mulut pasien kandidiasis oral di klinik Penyakit Mulut Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo. Sebagai pembanding digunakan *strain* laboratorium *C. albicans* ATCC (*American Type Culture Cell*) 10231 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi FKUI.

Sampel usapan diidentifikasi menggunakan CHROMagar dan diinkubasi selama 2 hari. Pada media CHROMagar *C. albicans* akan membentuk koloni berwarna hijau pucat. Konfirmasi spesies *C. albicans* dilanjutkan dengan melihat pembentukan *germ tube* dalam serum (*Fetal Bovine Serum*), diinkubasi selama 2 jam. Kemudian *C. albicans* isolat klinis dan *strain* ATCC 10231 diinokulasikan dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) miring, dan diinkubasi selama 2 hari.

Seluruh koloni *C. albicans* yang tumbuh dalam SDA miring diambil dengan sengkeli, lalu dimasukkan ke dalam Eppendorf *tube* berisi 1 ml PBS. Eppendorf *tube* ini disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 28°C. Setelah supernatan dibuang, PBS ditambahkan ke Eppendorf *tube* yang berisi pelet, sampai volumenya 1 ml, lalu dihomogenisasi. Kemudian 10 µl suspensi

diambil dari Eppendorf tube, dimasukkan ke dalam Eppendorf tube lainnya yang sudah berisi 990 μ l, sehingga diperoleh pengenceran 10^2 kali. Prosedur yang sama dilakukan sampai didapat pengenceran 10^6 kali.

Pemaparan tambahan glukosa 1%, 5%, 10% pada *C. albicans* isolat klinik dan *C. albicans* Strain ATCC 10231 dilakukan dalam medium *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB). Pada kontrol tidak diberikan tambahan glukosa. Disiapkan 16 Eppendorf tube yang ditutup dengan kapas steril, masing-masing ditandai dengan ke 4 konsentrasi glukosa (kontrol, 1%; 5%; dan 10%) dengan masing-masing dua durasi pemaparan (3 dan 7 hari). Lalu tiap Eppendorf tube diisi dengan larutan glukosa dan SDB sesuai dengan konsentrasinya, sebanyak 990 μ l. Kemudian dari Eppendorf tube berisi *C. albicans* dengan pengenceran 10^6 dari prosedur pengenceran diatas diambil 10 μ l sehingga volumenya menjadi 1 ml dan pengenceran menjadi 10^8 kali. Keenambelas Eppendorf tube ini disimpan di dalam suhu kamar dengan 2 durasi pemaparan (3 dan 7 hari) masing-masing untuk *C. albicans* isolat klinik dan strain ATCC 10231.

Candida albicans isolat klinik dan strain ATCC 10231 yang telah dipaparkan dengan glukosa selama 3 dan 7 hari kemudian disentrifugasi untuk didapatkan peletnya. Setelah itu pada masing-masing pelet tersebut ditambahkan PBS sampai volumenya dalam Eppendorf tube 1 ml. Kemudian dari masing-masing Eppendorf tube diambil 10 μ l suspensi, ditanam dalam cawan petri berisi SDA secara duplo. Setelah 2 hari diinkubasi, koloni *C. albicans* yang tumbuh dalam setiap cawan petri dihitung. Data dianalisis dengan ANOVA menggunakan α 0,05.

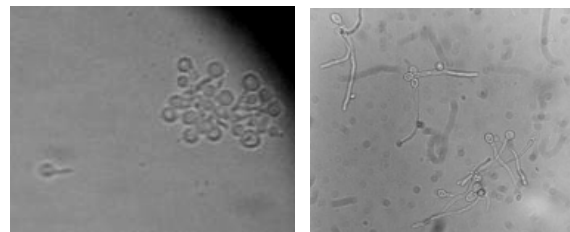
Hasil

Hasil pembiakan dalam CHROMagar dari usapan lesi mukosa mulut penderita kandidiasis oral menunjukkan bahwa sebagian besar koloni yang terbentuk adalah spesies *C. albicans*.



Gambar 1. Hasil Pembiakan *C. albicans* strain Klinik pada CHROMagar yang Menunjukkan Koloni Bulat Berwarna Hijau Pucat

Hasil konfirmasi identifikasi dengan melihat pembentukan *germ tube* di bawah mikroskop setelah 2 jam terpapar serum (*Fetal Bovine Serum*) pada suhu 37°C menunjukkan strain klinik maupun strain ATCC 10231 yang digunakan dalam penelitian ini adalah *C. albicans*.

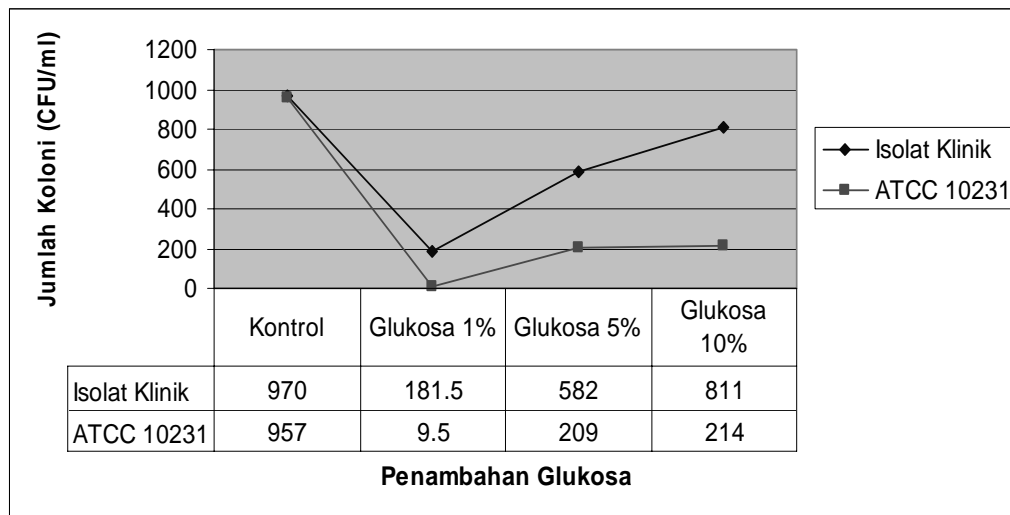


Gambar 2. Hasil Uji Pembentukan *Germ Tube* Sampel *C. albicans* Klinik setelah Paparan Serum selama 2 Jam pada Pembesaran Mikroskop 40x (kiri) dan Pembentukan *Germ Tube* pada Referensi (kanan)

Sumber: Schuster, G.S. *Oral Microbiology and infectious disease*. 2nd student ed. 1983, Baltimore: Williams and Wilkins.

Data Hasil Penelitian 3 Hari

Gambar 3 adalah grafik jumlah koloni *C. albicans* isolat klinik dan strain ATCC 10231 tanpa glukosa (kontrol), dengan penambahan glukosa 1%, 5%, dan 10% pada medium *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) selama 3 hari :



Gambar 3. Jumlah Koloni *C. albicans* Isolat Klinik dan *C. albicans* Strain ATCC 10231 pasca Penambahan Konsentrasi Glukosa selama 3 Hari (10^8)

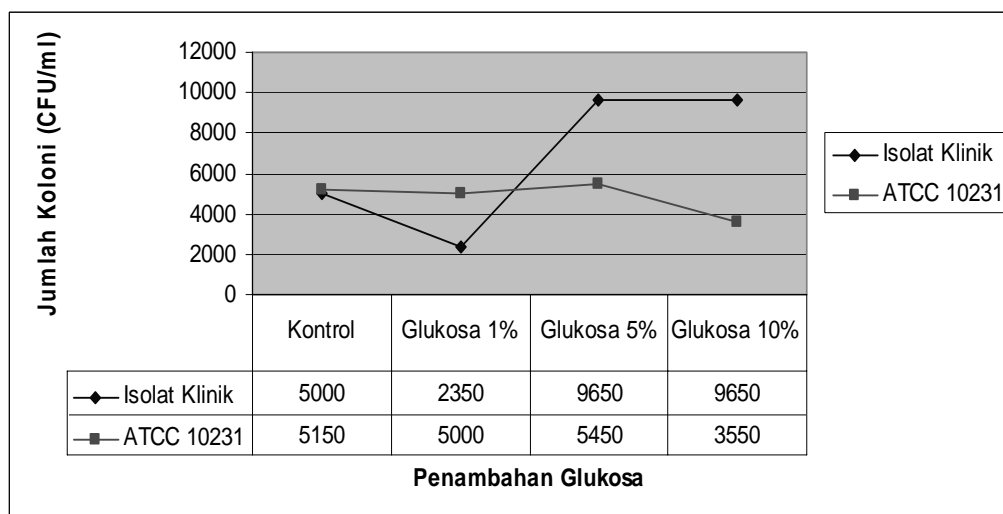
Pada gambar 3, terlihat bahwa pertumbuhan *C. albicans* isolat klinik yang ditambahkan glukosa 1%, 5% dan 10% mengalami penurunan dibandingkan kontrol (glukosa 0%). Namun hanya penambahan glukosa 1% dan 5% yang mengalami penurunan bermakna ($p < 0,05$). Kecenderungan yang sama juga terjadi pada pertumbuhan *C. albicans* strain ATCC 10231 dibandingkan kontrol, dan seluruh penurunannya bermakna ($p < 0,05$).

Jika tidak dibandingkan dengan kontrol, maka semakin tinggi penambahan glukosa akan

semakin meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* baik pada isolat klinik maupun strain ATCC 10231.

Data Hasil Penelitian 7 Hari

Gambar 4 adalah grafik jumlah koloni *C. albicans* isolat klinik dan strain ATCC 10231 kontrol (tanpa glukosa), dan dengan penambahan glukosa 1%, 5%, dan 10% pada medium *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) selama 7 hari:



Gambar 4. Jumlah Koloni *C. albicans* Isolat Klinik dan *C. albicans* Strain ATCC 10231 pasca Penambahan Konsentrasi Glukosa selama 7 Hari (10^8)

Pada gambar 4, terlihat bahwa penambahan glukosa 1% menurunkan pertumbuhan *C. albicans* isolat klinik dibandingkan kontrol, namun tidak bermakna. Sedangkan penambahan glukosa 5% dan 10% pada isolat klinik meningkatkan pertumbuhan jamur tersebut secara bermakna dibandingkan kontrol ($p = 0,026$).

Pada *C. Albicans strain* ATCC 10231, penambahan glukosa 1% dan 10% menurunkan pertumbuhan *C. albicans strain* ini dibandingkan kontrolnya. Sedangkan penambahan glukosa 5% meningkatkan pertumbuhan pada *strain* ini dibandingkan kontrolnya. Namun pada *C. albicans strain* ATCC 10231 ini, seluruh peningkatan dan penurunan pertumbuhannya tidak bermakna ($p > 0,05$).

Pembahasan

Glukosa berperan sebagai sumber karbon dan energi bagi *C. albicans*. Pada penelitian ini, ingin dianalisis efek penambahan glukosa 1%, 5%, dan 10% dengan durasi 3 dan 7 hari terhadap pertumbuhan *C. albicans* isolat klinik dengan *C. albicans* tanpa glukosa sebagai kontrol. Sebagai pembanding digunakan *C. albicans strain* ATCC 10231.

Penambahan glukosa 1% dan 5% pada durasi pendek (selama 3 hari) mengakibatkan penurunan jumlah koloni *C. albicans* secara bermakna, baik pada isolat klinik maupun *strain* ATCC 10231 dibandingkan kelompok kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa pada durasi pendek dan konsentrasi rendah, glukosa menghambat jumlah koloni *C. albicans*. Penurunan jumlah koloni *C. albicans* ini dapat disebabkan keadaan medium yang hipertonis pada awal pemaparan akibat kelebihan glukosa yang menyebabkan plasmolisis dinding sel *C. albicans*. Kondisi medium yang hipertonis akibat paparan glukosa dalam durasi pendek, telah dilaporkan oleh Schmitt (1968) yang menambahkan glukosa pada medium pertumbuhan *C. albicans* selama 4 hari.¹⁰

Pada durasi 7 hari, penambahan glukosa 5% dan 10% dapat meningkatkan pertumbuhan

C. albicans isolat klinik secara bermakna dibandingkan kontrol. Sedangkan penambahan glukosa dengan konsentrasi yang sama pada *C. albicans strain* ATCC 10231 tidak mempengaruhi pertumbuhan jumlah koloni *C. albicans* secara bermakna. Hal ini mengindikasikan bahwa *C. albicans* isolat klinik bersifat lebih virulen dibanding *C. albicans* yang telah dibiakan dalam laboratorium (ATCC 10231).

Efek pemaparan glukosa selama 7 hari terhadap pertumbuhan *C. albicans* berbeda antara pada isolat klinik dan ATCC 10231. Penambahan glukosa 5% dan 10% selama 7 hari meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* isolat klinik, tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans strain* ATCC 10231. Fenomena ini mungkin disebabkan oleh keadaan medium yang sudah isotonis sehingga terjadi keseimbangan cairan, sehingga pertumbuhan *C. albicans* menjadi stabil dan cenderung meningkat.

Pertumbuhan *C. albicans* juga dipengaruhi oleh durasi pemaparan glukosa. Pada media dengan penambahan glukosa selama 7 hari, pertumbuhan koloni *C. albicans* lebih meningkat dibandingkan pada media dengan penambahan glukosa selama 3 hari. Data ini relevan dengan data klinis bahwa kandidiasis lebih sering ditemukan pada kondisi dengan ketersediaan glukosa dalam kadar yang cukup tinggi dalam waktu yang lama, seperti pada penderita diabetes dan pasien yang menerima nutrisi dengan infus total.¹⁰

Faktor virulensi *C. albicans* antara lain dipengaruhi oleh perubahan fenotip,¹¹ pembentukan *germ tube* dan hifa,¹² ekspresi SAP 1-9,¹³ hidrofobisitas permukaan sel,¹⁴ serta peningkatan pertumbuhan *in vitro*. Dalam penelitian ini hanya faktor pertumbuhan *in vitro* saja yang diamati, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menjelaskan perubahan karakter fenotip *C. albicans* dan hubungannya dengan konsentrasi glukosa.

Kesimpulan

Penambahan glukosa dalam medium SDB dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans*.

Semakin tinggi konsentrasi glukosa yang ditambahkan dalam SDB, semakin bertambah pertumbuhan koloni *C. albicans*. Namun, pada durasi pendek (3 hari) penambahan konsentrasi glukosa 1% dan 5% dapat menghambat pertumbuhan koloni *C. albicans* secara bermakna baik pada isolat klinik maupun strain ATCC 10231. Durasi pemaparan glukosa dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans*. Semakin lama pemaparan glukosa maka pertumbuhan *C. albicans* akan semakin meningkat. Strain *C. albicans* yang berbeda memberikan respon berbeda terhadap penambahan glukosa dalam SDB. Pada *C. albicans* isolat klinik penambahan glukosa 5% dan 10% selama 7 hari menyebabkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan, sedangkan pada *C. albicans* ATCC 10231 tidak berpengaruh. Hal tersebut mengindikasikan *C. albicans* isolat klinik lebih sensitif terhadap perubahan kondisi hidupnya.

Referensi

1. Walter JB and MC Grundy. *Walter, Hamilton and Israel's Principles of Pathology for Dental Students*. 5th ed. 1992, Edinburgh: Churchill Livingstone. 126, 175-177.
2. Firriolo, FJ. *Oral Candidiasis*. Louisville. [diunduh 2008 Feb 20]. Available from : <http://www.dentalcare.com/soap/intermed/oralcan.htm>
3. Marsh, P. *Oral microbiology*. 4th ed. 1999. 162.
4. Carranza FA, HH Takei, and MG Newman. *Clinical Periodontology*. 9th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2002.
5. Naglik, J.R. and G. Newport. In vivo analysis of secreted aspartyl proteinase expression in human oral candidiasis. *J Infect and Immun*. 1999. 67(5): p. 2482-2490.
6. Rahayu R.P. *Analisis eksistensi gen SAP1 dan SAP3 sebagai faktor virulensi pada infeksi Candida albicans di mukosa rongga mulut penderita diabetes mellitus*. [diunduh 2008 Feb 21]. Available from : <http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=jiptunair-gdl-res-2007-rahayuretn5711&PHPSESSID=afaed74b2eecf0868bf46291eb10a8a9>.
7. Besford J. *Sepotong makanan manis menghasilkan 12 menit kerusakan Gigi*. [diunduh 2008 Feb 20]. Available from : <http://dention.bravehospes.com/kerusakandentin.html>.
8. Abu-Elteen KH, MA Hamad, and SA Salah. Prevalence of oral Candida infections in diabetic patients. *J Bahrain Med Bult*. 2006. 28(1):12-17.
9. Abu-Elteen K. The influence of dietary carbohydrates on in vitro adherence of four Candida species to human buccal epithelial cells. *J Microbiol in Health and Dis*. 2005. 17(9): p. 156-162.
10. Basson NJ Competition for glucose between *Candida albicans* and oral bacteria grown in mixed culture in a chemostat. *J Med Micro*. 2000. 49: p. 969-975.
11. Bates S, Rosa JMd. *Candida albicans* Iff11, a secreted protein required for cell wall structure and virulence. *J Infect and Immun*. 2007. 75(6): p. 2922-2928.
12. Vidotto, V., et al. Glucose influence on germ tube production in *Candida albicans*. *J Mycopath*. 1996. 133: p. 143-147.
13. Schuster, G.S. *Oral Microbiology and Infectious Disease*. 2nd student ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1983.
14. Dalle F, T Jouault. β -1,2- and β -1,2-Linked oligomannosides mediate adherence of *Candida albicans* blastospores to human enterocytes in vitro. *J Infect and Immun*. 2003. 71(12): 7061-7068.